**IDEXX cELISA EIA**  Česká verze

**Testovací sada k prokázání protilátek proti viru nakažlivé chudokrevnosti koní**

Pouze pro veterinární použití.

**Název a zamýšlené užití**

Testovací sada IDEXX cELISA EIA s využitím kompetitivní metody ELISA (cELISA) je rychlý, praktický a specifický test pro detekci protilátek proti EIA v séru koní. Pro redukci nespecifických reakcí, které se často vyskytují v testech ELISA, je zde použit purifikovaný antigen EIA a monoklonální protilátky proti p26.

**Popis a principy**

Sada IDEXX cELISA EIA obsahuje mikrotitrační destičky potažené monoklonální protilátkou specifickou pro p26, hlavní skupinově specifický antigen viru nakažlivé chudokrevnosti koní (EIAV). Antigen p26 byl konjugován s křenovou peroxidázou (HRPO). Koňské sérum se inkubuje simultánně s HRPO-konjugovaným antigenem p26. Sérové protilátky specifické pro p26 soutěží s anti-p26 monoklonálními protilátkami navázanými na destičce o purifikovaný enzymový antigen p26. Po vymytí reziduálního roztoku konjugátu se do každé jamky přidá substrát.
Vyskytují-li se ve vzorku séra koňovitých protilátky proti EIAV p26 antigenu, p26 antigen konjugovaný s HRPO se nemůže navázat na monoklonální protilátku nanesenou v jamkách mikrotitrační destičky a výsledkem je vznik pouze slabého (nebo žádného) zabarvení v pozitivním vzorku. Je-li kůň na protilátky proti EIAV negativní, p26 antigen konjugovaný s HRPO se na monoklonální protilátku v jamkách naváže a v jamkách se vzorkem vznikne silné modré zabarvení. Rozvoj zbarvení je v inverzním vztahu k množství protilátek proti EIAV. Pro závěrečnou intepretaci testu se zbarvení v jamkách s testovaným vzorkem srovnává se zbarvením v jamkách s pozitivním kontrolním vzorkem.

**Obsah soupravy**

**Činidla Množství**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  1  | Destička potažená Anti-EIAV  | 1 ks |
| 2  | Pozitivní kontrolní vzorek – konzervováno thimerosalem | 1 x 6.0 ml |
| 3  | Negativní kontrolní vzorek – konzervováno thimerosalem | 1 x 6.0 ml  |
| 4  | EIAV antigenní konjugát — konzervováno thimerosalem  | 1 x 6.0 ml  |
| A  | TMB Substrát | 1 x 12 ml  |
| B  | Zastavovací roztok  | 1 x 12 ml |

**Poznámka:** Popis symbolů použitých v této příbalové informaci a popisků této testovací sady najdete v tabulce na konci informace.

**Uchovávání**

Činidla uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Činidla jsou za předpokladu řádného skladování stabilní do data exspirace.

**Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Odměrný válec se stupnicí pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem pro vlnovou délku 620-650 nm)
* Promývací zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu činidel používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Termostat schopný udržet teplotu 37°C (±2°C)

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv/ ochranu očí nebo obličejový štít.
* Další informace najdete v bezpečnostních listech materiálu.
* Upozornění a bezpečnostní opatření pro použití činidel najdete na konci této příbalové informace.

**Laboratorní postupy**

* Pro dosažení optimálních výsledků přesně dodržujte tento protokol. K zachování přesnosti a správnosti je nezbytné pečlivé pipetování, měření času a promývání během postupu. Pro každý vzorek a kontrolu použijte vždy novou pipetovací špičku.
* TMB roztok nevystavujte silnému světlu nebo jakýmkoli oxidačním činidlům. Pro manipulaci s TMB roztokem používejte čisté skleněné nebo plastové nádoby.
* Všechny odpady je třeba před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah likvidujte v souladu s místními, regionálními a státními předpisy.
* Snažte se zabránit kontaminaci složek soupravy. Nenalévejte nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Odběr vzorků**

Test provádějte pouze na koňském séru. Vzorky by měly být doručeny do laboratoře co nejdříve po odběru. Vzorky by neměly být poškozeny teplem, hemolýzou, jiným způsobem degradace nebo kontaminací.
Vzorky by měly být uchovávány při teplotě 2 – 8°C nebo zmrazeny při -20°C. Zamrazení vzorků je doporučeno, pokud nebudou testovány během 5 dní. Séra, uchovávána při -20°C, mohou být zmrazena a rozmrazena pouze jednou před testováním. Rozmrazené vzorky před použitím dobře promíchejte.

**Postup testu**

Všechny činidla použité v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Činidla promíchejte jemným obracením nebo kroužením. Neponechávejte konjugát při teplotě 18–26 °C déle než dvě hodiny.

1. Oddělte potřebný počet proužků. Proužky popište a bezpečně uložte do držáku. Na každý vzorek séra použijte jednu jamku, dvě jamky si vyhraďte na dva kontrolní vzorky (A1, A2).
2. Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku a samostatnou jamku. Umístěte 100 μl každého vzorku séra do příslušných jamek.
3. Umístěte 100 μl negativní kontroly (NK) a 100 μl pozitivní kontroly (PK) do příslušných jamek.
4. Do každé jamky přidejte 50 μL antigenního konjugátu EIAV.
5. Důkladně promíchejte (desetkrát poklepejte na držák jamek).
6. Inkubujte nezakryté destičky po 30 minut (± 2 minuty) při 37 °C (± 2 °C).
7. Vymyjte destičky (ručně nebo pomocí promývacího zařízení).

**Poznámka:** Důkladné vymývání jamek je důležité. Nedostatečně vymytí může způsobit nespecifický rozvoj zbarvení a absenci rozdílu ve zbarvení mezi pozitivní a negativní kontrolou (oba kontrolní vzorky budou tmavě modré).
**Ruční vymytí** – Vyklepejte činidla z jamky do výlevky. Vysušte jamky čistým papírovým ručníkem. Nakloňte jamky do úhlu 45° směrem k sobě. Začněte ve spodní řadě a pohybem ze strany na stranu prudce vystříkávejte jamky deionizovanou vodou ze střičky. Zkontrolujte, zda jsou všechny jamky zcela zaplněny vodou bez vzduchových bublin. Vodu z jamek vylijte do výlevky. Opakujte postup pětkrát. Po posledním vypláchnutí vysušte jamky papírovým ručníkem. Během prvních vymývání zabraňte křížové kontaminaci jamek – vylijte činidla do výlevky a jamky vysušte čistým papírovým ručníkem.

**Vymytí automatickou myčkou** – Odsajte tekutý obsah všech jamek do vhodné odpadní nádržky. Každou jamku vymyjte 3-5x zhruba 350 μL deionizované vody. Při každém vymývání jamky zcela vyplňte obsah a poté kompletně odsajte.

1. Do každé jamky dejte 100 μL roztoku TMB substrátu.
**Poznámka:** Používáte-li kapátko, dejte do každé jamky dvě kapky.
2. Důkladně promíchejte (desetkrát poklepejte na držák).
3. Inkubujte destičku po dobu 15 minut (± 1 minuta) při 18–26 °C.
4. Do každé jamky dejte 100 μL zastavovacího roztoku.
**Poznámka:** Používáte-li kapátko, dejte do každé jamky dvě kapky.
5. Sledujte změnu zbarvení. Za pomoci čtečky změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance (optické hustoty) pro všechny jamky při vlnové délce 650 nm. Nemáte-li k dispozici čtečku, lze výsledky testu určit vizuálním srovnáním intenzity zbarvení vzorku s intenzitou zbarvení pozitivní kontroly (viz část Výsledky).
6. Výsledky:
Pro validitu testu musí být zbarvení kontrol následující:

Negativní kontrola – substrát se zbarvil **tmavě** modře.

Pozitivní kontrola – substrát se zbarvil **světle** modře.

**Poznámka:** Nedostatečné vymývání může způsobit absenci rozdílu ve zbarvení mezi negativní a pozitivní kontrolou (oba vzorky budou tmavě modré).

1. Interpretace:

• Pozitivní kontrola musí mít optickou hustotu ≥ 0,150 při vlnové délce 650 nm.

• Pozitivní kontrola musí mít ≤ 70% optické hustoty (O.D.) negativní kontroly při vlnové délce 650 nm.

• O.D. pozitivních vzorků ≤ O.D. pozitivní kontroly.

• O.D. negativních vzorků > O.D. pozitivní kontroly.

• Mírná nebo žádná změna zbarvení testovaného vzorku indikuje přítomnost protilátek proti EIAV v séru.
- Vzorky se stejným nebo slabším zbarvením, než má světle modrá pozitivní kontrola jsou pozitivní.
- Některé pozitivní vzorky mohou být čiré (bez zbarvení).
- Pozitivní výsledky testu se doporučuje ověřit testem EIA AGID.

• Změna zbarvení vzorku intenzivnější než u světle modré pozitivní kontroly indikuje nepřítomnost protilátek proti EIAV v séru. Vzorky s intenzivnějším zbarvením než u světle modré pozitivní kontroly jsou negativní.

• Vzorky, které nelze snadno vizuálně interpretovat kvůli podobné intenzitě zbarvení jako u pozitivní kontroly jsou považovány za sporné. Optickou hustotu takovýchto vzorků se doporučuje stanovit pomocí čtečky, případně vzorky odeslat do národní laboratoře orgánu veterinární péče pro potvrzení.

**Poznámka:**

Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy, které poskytují výpočty výsledků a souhrny údajů.

Prodej a použití ve Spojených státech je omezen pouze na laboratoře schválené státními a federálními úřady (USDA).

Prodej a použití této sady v jiných zemích může být omezeno veterinárními regulačními orgány.

Technická podpora:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895

IDEXX Evropa Tel: +800 727 43399

Obraťte se na manažera nebo distributora společnosti IDEXX pro Vaši oblast nebo navštivte naši webovou stránku: [www.idexx.com/production/contactlpd](http://www.idexx.com/production/contactlpd)

VLN/PCN: 313/5515.00

IDEXX a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností ve Spojených státech amerických a/nebo v jiných zemích.

© 2021 IDEXX Laboratories, Inc. Veškerá práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

**Zastavovací roztok** – Způsobuje mírné podráždění pokožky. Způsobuje závažné podráždění očí. Noste ochranné rukavice/brýle/obličejový štít. Dojde-li k podráždění pokožky: vyhledejte lékařskou pomoc/poraďte se s lékařem. Přetrvává-li podráždění očí: vyhledejte lékařskou pomoc/poraďte se s lékařem.

**Popis symbolů**

 Kód šarže

 Sériové číslo

 Katalogové číslo

 Diagnostika in vitro

 Autorizovaný zástupce v Evropském společenství

 Pozitivní kontrolní vzorek

 Negativní kontrolní vzorek

 Použijte do

 Datum výroby

 Výrobce

 Teplotní omezení

 Čtěte návod na použití

****  Větší změna v návodu na použití

*Výrobce*

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com